



## PROTÓTIPO DE WILTMETER R2: PARA A LEITURA DA PRESSÃO DE TURGESCÊNCIA CELULAR DE FOLHAS NO CAMPO

R. V. Aroca<sup>1</sup>, A. G. Calbo<sup>2</sup>

(1) Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, Rodovia Washington Luís, SP 310, km 235, 13565-905, São Carlos, SP, aroca@ufscar.br

(2) Embrapa Instrumentação, Rua Quinze de Novembro 1452, 13560-970, São Carlos, SP, adonai.calbo@embrapa.br

**Resumo:** O Wiltmeter é um dispositivo portátil que permite medições de pressão de turgescência das células de folhas em campo com simplicidade. É um instrumento adequado para aplicações em fisiologia da produção, incluindo: a quantificação da hidratação de vegetais de folhas e como método complementar para avaliar a eficiência de manejo da irrigação. No manejo de irrigação, o instrumento possibilita fazer inferências sobre a ocorrência de deficiência hídrica de plantas de forma direta, em qualquer local e em poucos minutos. O Wiltmeter R2 é composto por uma pinça foliar preparada em impressora 3D, cuja característica técnica mais importante é definida na placa de aplanção, cujos orifícios concêntricos possibilitam a passagem de ar. Estes orifícios foram usados em substituição às ranhuras presentes na versão anterior do Wiltmeter, para propiciar simplicidade, eficiência e durabilidade ao instrumento. A pressão de turgescência celular foliar é exibida em um display, por um sistema eletrônico que também possibilita transmissão dos dados com tecnologia Bluetooth. Assim, um telefone celular, por exemplo, pode coletar dados georeferenciados de forma automática. A correlação 0,92 entre as leituras de pressão de turgescência das células foliares obtidas entre os dois modelos Wiltmeter confirmam a adequação do novo Wiltmeter R2.

**Palavras-chave:** fisiologia vegetal, folha, instrumento, método, pressão de turgescência, Wiltmeter.

### PROTOTYPE WILTMETER R2: FOR LEAF CELL TURGOR PRESSURE READING IN THE FIELD

**Abstract:** The Wiltmeter is a portable device that enables measurements of leaf cell turgor pressure in the field with simplicity. It is an appropriate instrument for applications in crop physiology including: the quantification of the hydration of leafy vegetables and as supplementary method to gauge the irrigation scheduling efficiency. In irrigation management, the instrument enables inferences about the occurrence of water stress of plants directly, anywhere and in a few minutes. The Wiltmeter R2 is composed of a leaf clamp prepared in a 3D printer, whose most important technical feature is set in the applanation plate, which have concentric orifices intended to allow the passage of air. These orifices were used to replace grooves in the previous Wiltmeter model, for simplicity efficiency and instrument durability. The leaf cell turgor pressure is displayed by an electronic system that also enables data transmission with Bluetooth technology. Thus, a cell phone, for example, can collect georeferenced data automatically. A correlation 0.92 between leaf cell turgor pressure readings obtained between the two Wiltmeter models confirm the suitability of the new R2 Wiltmeter.

**Keywords:** leaf, plant physiology, instrument, method, turgor pressure, Wiltmeter.

### 1. Introdução

As folhas são órgãos laminares com espessura variável, que na maioria das plantas mesófitas apresentam espessura da ordem 0,12 mm. Nessas folhas, o crescimento, a exuberância e a disposição espacial são governadas pela pressão de turgescência celular. Do estado da água na planta, a pressão de turgescência celular é um dos componentes mais relevantes (BOYER, 1985; SCHOLANDER et al, 1964).

A medição da turgescência celular de folhas com instrumentos portáteis no campo passou a ser uma tarefa facilmente quantitativa após o desenvolvimento do Wiltmeter (CALBO e PESSOA, 2009). Os valores dessas medições rápidas foram posteriormente aferidos contra o método da sonda de pressão celular (HÜSKEN et al, 1978) em folhas de alface, couve e chicória (CALBO et al, 2010).

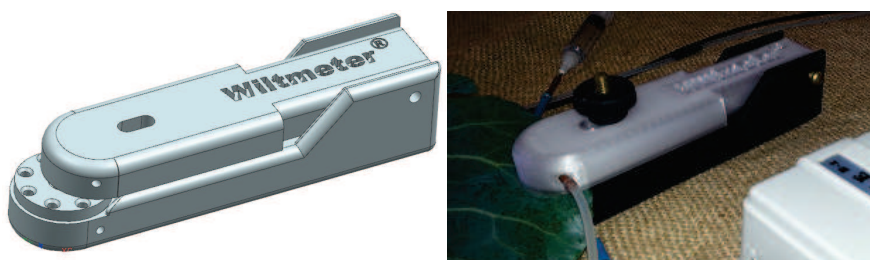
Embora o Wiltmeter esteja em fase de desenvolvimento industrial, nota-se que ainda há necessidade de protótipos para pesquisas em fisiologia da produção e também para contribuir para a agregação de funcionalidades e aperfeiçoamentos buscando formas que facilitem seu desenvolvimento e construção, que melhorem seu desempenho e portabilidade e que facilitem a aquisição dos dados durante os trabalhos de campo. Uma das limitações

do Wiltmeter utilizado por Calbo et al (2010), para o desenvolvimento de instrumentos, é a sua placa de aplanção cujas ranhuras além de demandar tecnologia de aplicação ainda são susceptíveis a desgaste. Outras limitações importantes observadas envolvem a necessidade de leitura digitalizada, maior facilidade de manuseio no campo, rapidez e a disponibilidade de método tecnológico e simples de aquisição cumulativa dos resultados obtidos.

Para superar as dificuldades mencionadas desenvolveu-se o Wiltmeter R2 para operação portátil de campo mais simples, mediante melhorias na aplicação da técnica de aplanção, que é o fundamento de funcionamento do Wiltmeter, e também pela agregação sistemas eletrônicos de estimativa da pressão de turgescência celular e de gravação das leituras obtidas com auxílio da tecnologia Bluetooth em conjunto com um Tablet ou telefone celular. As leituras do novo Wiltmeter R2 foram comparadas com aquelas obtidas por um Wiltmeter convencional já validado.

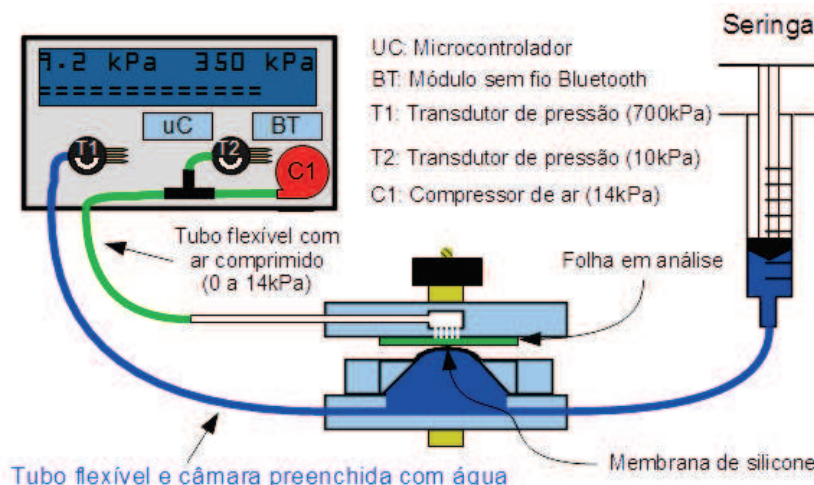
## 2. Materiais e Métodos

A pinça foliar para a leitura do Wiltmeter (Fig. 1) foi preparada por impressão 3D usando filamento plástico de ABS transparente de 2,9mm de diâmetro, em uma impressora Sethi3D AiP 3 com ajuste de resolução de 0,3 mm por camada, 8 paredes verticais sólidas, 8 paredes horizontais sólidas e 20% de preenchimento de material. A impressão foi realizada com mesa aquecida a 110 graus Celcius e extrusora de plástico a 235 graus Celcius. A figura 1 mostra o desenho do modelo feito em software de modelagem 3D, e uma foto do objeto pronto para uso.



**Figura 1.** Pinça foliar e base do Wiltmeter R2. Esquerda: modelo 3D do dispositivo; Direita: foto do sistema impresso e montado.

Na figura 2 a pinça foliar é ilustrada em corte, compreendendo a vista parcial da base, anel de fixação da membrana flexível, e placa de aplanção, que apoia a folha sob análise, que por sua vez fica sobre a membrana, enquanto o operador aperta progressivamente a seringa de água até que a membrana comprima a folha a ponto de gerar a leitura automática da pressão de turgescência celular, que é adquirida quando a restrição a um fluxo de ar entre a folha e a placa de aplanção torna-se igual à restrição de referência o que é indicado pela geração de um valor especificado da pressão. Na caixa do sistema eletrônico de leitura são acomodados um compressor de ar, uma restrição de ajuste de fluxo de ar ( $\sim 4\text{ml min}^{-1}$  a 12kPa), e dois transdutores de pressão, um de 10 kPa para ar (MPX5010) e outro de 700 kPa para água (MPX5700) alimentados por uma fonte de 5V. O compressor de ar utilizado é alimentado por uma bateria de 1,5V, e gera uma pressão de 12kPa a 14kPa.



**Figura 2.** Ilustração geral do sistema e para a aplicação da técnica de aplanção para medir pressão de turgescência celular de folhas. No Wiltmeter R2 a folha é progressivamente comprimida contra a placa de aplanção até que a pressão dissipada pela passagem de ar através dos orifícios (13), igual à pressão dissipada em uma restrição de referência.

Antes da primeira leitura, e uma vez a cada duas horas, o operador deve tampar os orifícios sob a placa de aplanção, ligar o compressor e verificar se a pressão lida no display (mostrador) de LCD, referente ao transdutor de pressão T2 atinge valores entre 12 kPa e 14 kPa. Caso a pressão seja menor a bateria deve ser substituída.

Para realizar a medida, o operador prende a folha na pinça entre a membrana de silicone de pressurização e os orifícios, sem apertar, usando a manipula de fixação. O compressor é ligado e o ar inicialmente escapa sob a folha, através de 13 orifícios concêntricos de dissipação de pressão com 0,4 mm de diâmetro, da placa de aplanção. Dessa forma a leitura inicial da pressão do ar no transdutor de pressão T2 é zero. A seguir a folha é progressiva e lentamente comprimida pela membrana, mediante aperto na seringa com água. Com o aumento da pressão a folha é progressivamente moldada contra a placa de aplanção e vai fechando os orifícios de dissipação de pressão, o que causa progressivo aumento da pressão de ar, que ao atingir valor de 6kPa causa a fixação da leitura estimada da pressão de turgescência celular da folha (kPa) no display (mostrador). É importante notar que a seringa utilizada deve ser nova, para permitir a imposição mais suave e controlada de pressão por parte do operador.

O sistema também transmite as leituras via Bluetooth para dispositivos como computadores, tablets e telefones celulares. Dessa forma, é possível usar um *smartphone* para coletar e armazenar os dados automaticamente, associar as medidas à posição geográfica, data e hora. Os dados são enviados em formato texto separado por vírgula utilizando uma porta serial Bluetooth Virtual na velocidade de 9600 bits por segundo, de forma que qualquer software pode coletar os dados através de comunicação serial Bluetooth.

O protótipo de Wiltmeter R2 foi comparado com o protótipo de Wiltmeter descrito por Calbo et al (2010) para a realização de medições de pressão de turgescência celular de folhas de couve submetida à progressiva perda de água por transpiração sobre uma bancada a temperatura de  $22\pm3$  °C e sob umidade relativa de  $70\pm5\%$ . Para o uso de regressão cada par de pontos correspondeu as leituras tomadas sob a mesma área da folha delimitada por um círculo em um estado de hidratação instantâneo tomado em um intervalo de tempo menor que 3 minutos.

### 3. Resultados e Discussão

O nome Wiltmeter R2 se deve ao fato de que o contato da folha com a placa de aplanção causa uma segunda restrição ao fluxo de ar em adição à restrição referência. No Wiltmeter R2 o fluxímetro foi substituído por um transdutor de pressão eletrônico, que é um sensor robusto e mais simples. Nesse modelo a leitura da pressão de turgescência celular foi realizada quando a pressão aumenta de zero para 6 kPa, o que significa que um fluxo total de ar de cerca de  $2 \text{ ml min}^{-1}$  atravessa entre os orifícios de dissipação de pressão da placa de aplanção e a folha no momento da leitura. Essa é a condição de leitura utilizada para simular a restrição efetiva entre a folha e a placa de aplanção de um Wiltmeter convencional (CALBO et al, 2010) no momento da leitura.

A curva de aumento de pressão de ar em um Wiltmeter R2 não é do tipo aproximação assintótico o que possibilita leituras mais rápidas que no Wiltmeter convencional, apesar de também possuir tempo de resposta governado pelo volume morto, ou volume gasoso total entre os orifícios da placa de aplanção na pinça foliar e o transdutor de pressão.

Quanto à pressão de turgescência celular, os dois protótipos de Wiltmeter apresentam eficiência similar conforme atesta a regressão linear com inclinação 0,92 nas folhas de couve. Complementarmente, deve-se também considerar que a leitura do Wiltmeter R2 é substancialmente fácil. Adicionalmente, a placa de aplanção do Wiltmeter R2 é menos propensa ao desgaste, visto que faz uso de 13 orifícios concêntricos em substituição ao ranhuramento, que tem apresentado desgaste durante o seu uso intenso. No Wiltmeter R2 os componentes mais volumosos e pesados são transportados com fixação em um cinto ou alça a tiracolo. Essa separação da pinça com a qual se prende a folha facilita medições repetitivas, que são demandadas em pesquisa.

A regressão linear entre as leituras com o Wiltmeter convencional e do Wiltmeter R2 (Fig. 3), apresentou coeficiente de correlação ( $R^2$ ) superior a 0,9, indicando que o Wiltmeter R2 tem performance similar ao anterior. A mesma figura também apresenta uma foto de um uso típico do aparelho, onde um operador fixa o sistema de cinto, enquanto dois tubos flexíveis conduzem o fluxo de ar e o sinal de pressão durante as leituras. Caso exista algum dispositivo móvel de coleta de dados, tal como um telefone celular, conectado ao sistema, então cada medida feita é automaticamente transmitida via Bluetooth para tal dispositivo.

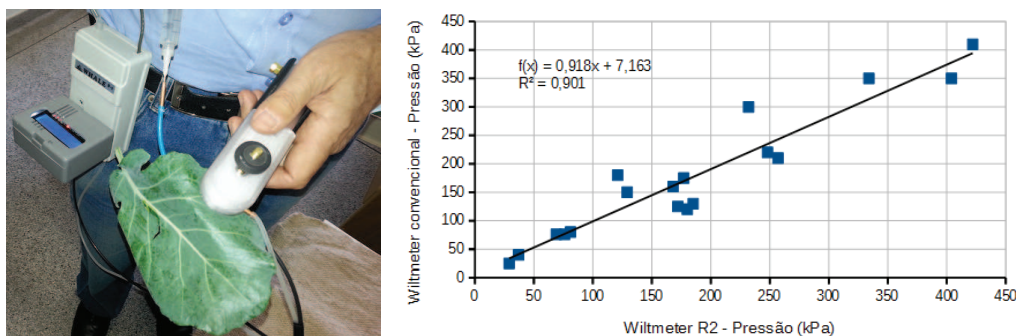


Figura 3. Regressão linear entre as leituras de pressão de turgescência foliar (kPa) obtida no Wiltmeter R2 e no Wiltmeter convencional, para folhas de couve durante a desidratação ao ar a  $22\pm3$  °C. Direita: Ilustração da forma de uso do Wiltmeter R2, com o sistema eletrônico fixado na cintura do operador.

#### 4. Conclusões

O Wiltmeter R2 é um protótipo aprimorado para medir a pressão de turgescência celular das folhas de forma rápida e prática. Com o seu desenvolvimento demonstra-se a viabilidade da construção de instrumentos através de técnicas de prototipagem auxiliada por impressora 3D.

Mecanicamente, os orifícios de dissipação de pressão na placa de aplanção do Wiltmeter R2 são menos sujeitos ao desgaste e mais viáveis de prototipagem 3D que as ranhuras de modelos anteriores. Adicionalmente, a separação entre a pinça foliar e os sistemas eletrônicos, alocados em caixa à tiracolo, tornam a execução das medições repetitivas de campo menos cansativas.

O sistema eletrônico do Wiltmeter R2 determina automaticamente o momento da medida da pressão de turgescência celular, que é exibida em um display de LCD e pode também ser transmitida por Bluetooth. A declividade de 0,92 em relação ao Wiltmeter indica que as alterações instrumentais introduzidas no Wiltmeter R2 não comprometem as medições de pressão de turgescência celular das folhas.

#### Referências

- BOYER, J.S. Water transport. *Annual Review of Plant Physiol.* v.36, p.473–516, 1985.
- CALBO, A.G.; FERREIRA, M.D.; PESSOA, J.D.C. A leaf lamina compression method for estimating turgor pressure. *HortScience.* v. 45, n. 3 p.418-423, 2010.
- CALBO, A.G.; PESSOA, J.D.C. Applanation system for evaluation of cell pressure dependent firmness on leaves and soft organs flat face segments. WO Patent 009850, 2009.
- HÜSKEN, D.; STEUDLE, E.; ZIMMERMANN, V. Pressure probe technique for measuring water relations in higher plants. *Plant Physiol.* v.61, p.158–163, 1978.
- SCHOLANDER, P.F.; HAMMEL, H.T.; HEMINGSEN, E.A.; BRADSTREET, E.D. Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants. *Proceedings of the national academy of sciences*, v.52, p.119–125, 1964.
- ZIMMERMANN, D.; REUSS, R.; WESTHOFF, M.; GEBNER, P.; BAUER, W.; BAMBER, E.; BENTRUP, F.W.; ZIMMERMANN, U. A novel, noninvasive, online-monitoring, versatile and easy plant-based probe for measuring leaf water status. *Journal of Experimental Botany*, v.59, p.3157–3167, 2008.